

ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ ЦИТОКИНОВ, ЭКСПРЕССИРУЕМЫХ НАТИВНЫМИ КЛАПАНАМИ СЕРДЦА, ПОЛУЧЕННЫМИ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ПРИОБРЕТЁННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Синицкая А.В., Синицкий М.Ю., Хуторная М.В., Понасенко А.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Патогенез приобретённых пороков сердца представляет собой комплексный процесс, в который вовлечено множество различных факторов. Одним из триггеров развития дисфункций нативных клапанов сердца может выступать воспалительный процесс, вызванный различными видами патогенов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка локального профиля цитокинов, экспрессируемых нативными клапанами сердца, полученными от пациентов с приобретёнными пороками сердца в процессе кардиохирургического вмешательства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования были получены биоптаты нативных митральных клапанов сердца от 4 пациентов с инфекционным эндокардитом (ИЭ) и от 10 пациентов с ревматической болезнью сердца (РБС). Для выделения РНК использовали коммерческий набор RNeasy® Plus Universal Mini Kit (Qiagen, Германия); экстракцию белка проводили с применением лизирующего буфера T-PER™ Tissue Protein Extraction Reagent (ThermoScientific, США) с добавлением ингибиторов протеаз Halt™ Protease Inhibitor Cocktail (ThermoScientific, США) и 0,5 М раствора ЭДТА (ThermoScientific, США). Уровень экспрессируемых нативными клапанами цитокинов определяли с помощью дот-блоттинга с использованием набора Proteome Profiler™ Human Cytokine Array Kit (ARY005B) (R&D Systems, США). Экспрессию генов цитокинов оценивали методом количественной полимеразной цепной реакции с использованием зондов SYBR Green (ЗАО «Евроген», Россия) на амплификаторе ViiA7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США). Статистический анализ

полученных результатов был выполнен в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обнаружено, что белки MIF (фактор, ингибирующий миграцию макрофагов), PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена-1), ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии-1) и CXCL12 (стромальный фактор роста-1) регистрируются в нативных клапанах, полученных и от пациентов с ИЭ, и от пациентов с РБС. Полуколичественный анализ показал, что нативные клапаны, полученные от пациентов с ИЭ, характеризуются четырёхкратным превышением уровня секреции PAI-1 и двукратным снижением уровня ICAM-1 и CXCL12 в сравнении с контролем. MIF экспрессировался на одинаковом уровне в обеих изученных группах. IL-1ra (антагонист рецептора интерлейкина 1), IL-6 (интерлейкин 6), IL-8 (интерлейкин 8), IL-16 (интерлейкин 16), CCL4 (хемокиновый лиганд 4), CCL5 (хемокиновый лиганд 5) и CXCL1 (хемокиновый лиганд 1) были обнаружены только в клапанах, поражённых ИЭ. Экспрессия генов *MIF*, *IL6* и *IL8* была повышена в экспериментальной группе относительно контроля, а генов *PAI1*, *IL1RA* и *CXCL1* – понижена в эксперименте относительно контроля. Генная экспрессия *ICAM1*, *CXCL12*, *CCL4*, *CCL5* и *IL16* была одинакова в обеих изученных группах.

ВЫВОДЫ

Результаты проведённого исследования показывают, что нативные клапаны сердца, поражённые ИЭ, характеризуются уникальным цитокиновым профилем по сравнению с клапанами, полученными от пациентов с неинфекционной патологией эндокарда. В поражённых ИЭ нативных клапанах сердца отмечаются неспецифическое локальное воспаление, активная неоваскуляризация и снижение резистентности к патогенной бактериемии.

ASSESSMENT OF THE LOCAL PROFILE OF CYTOKINES EXPRESSED BY NATIVE HEART VALVES OBTAINED FROM PATIENTS WITH ACQUIRED HEART DEFECTS

Sinitskaya A.V., Sinitsky M.Yu., Khutornaya M.V., Ponasenkov A.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

BACKGROUND

The pathogenesis of acquired heart defects is a complex process in which many different factors are involved. One of the triggers for the development of dysfunction of native heart valves may be the inflammatory process caused by various types of pathogens.

THE AIM

Assessment of the local profile of cytokines expressed by native heart valves obtained from patients with acquired heart defects during cardiac surgery.

MATERIALS AND METHODS

As material for the study, biopsies of native mitral heart valves were obtained from 4 patients with infective endocarditis (IE) and 10 patients with rheumatic heart disease (RHD). For RNA isolation, a commercial kit RNeasy® Plus Universal Mini Kit (Qiagen, Germany) was used; protein extraction was performed using T-PER™ Tissue Protein Extraction Reagent lysis buffer (ThermoScientific, USA) with the addition of protease inhibitors Halt™ Protease Inhibitor Cocktail (ThermoScientific, USA) and 0.5 M EDTA solution (ThermoScientific, USA). The level of cytokines expressed by native valves was determined by dot blotting using the Proteome Profiler™ Human Cytokine Array Kit (ARY005B) (R&D Systems, USA). The expression of cytokine genes was assessed by quantitative polymerase chain reaction using SYBR Green probes (OOO Evrogen, Russia) on a ViiA7 Real-Time PCR System amplifier (Applied Biosystems, USA). Statistical analysis of the obtained results

was performed in the GraphPad Prism 8 program (GraphPad Software, USA).

RESULTS

The proteins MIF (macrophage migration inhibitory factor), PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) and CXCL12 (stromal growth factor-1) proteins were found in native valves obtained and from patients with IE, and from patients with RHD. Semiquantitative analysis showed that native valves obtained from patients with IE are characterized by a fourfold increase in the level of PAI-1 secretion and a twofold decrease in the levels of ICAM-1 and CXCL12 compared to controls. MIF was expressed at similar levels in both groups studied. IL-1ra (interleukin 1 receptor antagonist), IL-6 (interleukin 6), IL-8 (interleukin 8), IL-16 (interleukin 16), CCL4 (chemokine ligand 4), CCL5 (chemokine ligand 5) and CXCL1 (chemokine ligand 1) were detected only in valves affected by IE. The expression of the *MIF*, *IL6* and *IL8* genes was increased in the experimental group relative to the control, and the expression of the *PAI1*, *IL1RA* and *CXCL1* genes was decreased in the experiment relative to the control. Gene expression of *ICAM1*, *CXCL12*, *CCL4*, *CCL5* and *IL16* was similar in both groups studied.

CONCLUSIONS

The results of the study show that native heart valves affected by IE are characterized by a unique cytokine profile compared to valves obtained from patients with non-infectious endocardial pathology. In native heart valves affected by IE, nonspecific local inflammation, active neovascularization, and decreased resistance to pathogenic bacteremia are observed.

Для цитирования: Синицкая А.В., Синицкий М.Ю., Хуторная М.В., Понасенков А.В. Оценка локального профиля цитокинов, экспрессируемых нативными клапанами сердца, полученными от пациентов с приобретёнными пороками сердца. *Байкальский медицинский журнал*. 2023; 2(3): 94-95. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-94-95

For citation: Sinitskaya A.V., Sinitsky M.Yu., Khutornaya M.V., Ponasenkov A.V. Assessment of the local profile of cytokines expressed by native heart valves obtained from patients with acquired heart defects. *Baikal Medical Journal*. 2023; 2(3): 94-95. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-94-95